HemosIL™

D-Dimer HS - 0020007700

ENGLISH - Insert revision 04/2010

Intended use

HemosIL D-Dimer HS is an automated latex enhanced immunoassay for the quantitative determination of D-Dimer in human citrated plasma on the ACL TOP™ for use, in conjunction with a clinical pretest probability (PTP) assessment model to exclude venous thromboembolism (VTE) in outpatients suspected of deep venous thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE).

Summary and principle

D-Dimer is contained in the soluble derivatives formed upon plasmin degradation of Factor XIIIa cross-linked fibrin (XDP).[1] Plasmin, a serine protease, when free from inhibitors digests the insoluble cross-linked fibrin yielding a variety of soluble derivatives. Their molecular weights depend on the extent of the digestion. These soluble fibrin degradation products contain a neoantigen (D-Dimer domain) which is not present on the original fibrinogen molecule, its degradation products or on soluble fibrin.[2,3] The determination of D-Dimer is becoming a widespread tool for diagnosing thrombosis and monitoring thrombolytic therapy.[4]

Elevated levels of D-Dimer are found in clinical conditions such as deep vein thrombosis (DVT), pulmonary embolism (PE) and disseminated intravascular coagulation (DIC).[5] D-Dimer levels also rise during the normal pregnancy but very high levels are associated with complications.[6]

A negative D-Dimer result when combined with a clinical assessment of low pretest probability has been shown to have a high negative predictive value for DVT or PE.[7-13]

The D-Dimer HS Latex Reagent is a suspension of polystyrene latex particles of uniform size coated with the $F(ab')_2$ fragment of a monoclonal antibody highly specific for the D-Dimer domain included in fibrin soluble derivatives. The use of the $F(ab')_2$ fragment allows a more specific D-Dimer detection avoiding the interference of some endogenous factors like the Rheumatoid Factor. When a plasma containing D-Dimer is mixed with the Latex Reagent and the Reaction Buffer included in the D-Dimer HS kit, the coated latex particles agglutinate. The degree of agglutination is directly proportional to the concentration of D-Dimer in the sample and is determined by measuring the decrease of the transmitted light caused by the aggregates (turbidimetric immunoassay).[14]

Composition

The **D-Dimer HS** kit consists of:

- **R** **Latex Reagent** (Cat. No. 0020007720): 3 vials x 2 mL of a lyophilized suspension of polystyrene latex particles coated with the $F(ab')_2$ fragment of a mouse monoclonal antibody (MA-8D3) directed against D-Dimer containing bovine serum albumin, buffer, stabilizers and preservative.
- **B** **Reaction Buffer** (Cat. No. 0020007721): 3 vials x 8 mL of phosphate buffer containing bovine serum albumin, stabilizers and preservative.
- **C** **D-Dimer Calibrator** (Cat. No. 0020007722): 2 vials x 1 mL of a lyophilized solution of D-Dimer partially purified from human fibrin digested with human plasmin containing bovine serum albumin, buffer, stabilizers and preservative.

PRECAUTIONS AND WARNINGS:
The material in this product was tested and found nonreactive for Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg), Anti-HCV and HIV 1/2 antibodies. Handle as if potentially infectious.[15]

The Reaction Buffer contains less than 0.1% sodium azide that may form explosive azides in metal plumbing. Use proper disposal procedures.

Avoid contact with skin and eyes (S 24/25). Do not empty into drains (S 29). Wear suitable protective clothing (S 36).

This product is For *in vitro* Diagnostic Use.

Preparation

Latex Reagent: Dissolve the contents of each vial with 2 mL of CLSI (formerly NCCLS) CLRW Type water or equivalent.[16] Replace the stopper and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep the reagent at 15-25°C for 30 minutes and gently invert to mix before use. Do not shake.

Reaction Buffer: Gently invert to mix before use. The reagent is ready for use. Do not shake.

D-Dimer Calibrator: Dissolve the contents of each vial with 1 mL of CLSI Type water or equivalent.[16] Replace the stopper and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep the reagent at 15-25°C for 30 minutes and gently invert to mix before use. Do not shake.

Note: Avoid foam formation when homogenizing reconstituted reagents and calibrator. Bubbles on top of the liquids may interfere with the instruments liquid sensors.

Reagent storage and stability

Unopened reagents and calibrator are stable until the expiration date shown on the vial when stored at 2-8°C.

Latex Reagent - Stability after reconstitution: 1 month at 2-8°C in the original vial or 4 days at 15°C on the ACL TOP™. Do not freeze.

Reaction Buffer - Opened reagent is stable 1 month at 2-8°C in the original vial or 4 days at 15°C on the ACL TOP.

D-Dimer Calibrator - Stability after reconstitution: 3 days at 15-25°C, 1 month at 2-8°C or 2 months at -20°C in the original vial. Frozen Calibrator may be thawed at 37°C and gently mixed before use. Do not refreeze.

For optimal stability remove reagents from the system and store them at 2-8°C in the original vial.

Instrument/test procedures

Refer to the appropriate IL instrument's Operator's Manual and/or Application Manual for the complete assay procedure instructions.

Specimen collection and preparation

Nine parts of freshly drawn venous blood are collected into one part trisodium citrate. Refer to CLSI Document H21-A4 for further instructions on specimen collection, handling and storage.[17]

Thaw frozen samples rapidly at 37°C and centrifuge plasma before testing. After thawing the assay must be performed within 2 hours.

Additional reagents and control plasmas

The following are not supplied with the kit and must be purchased separately.

D-Dimer Controls	Cat. No. 0020008610
Factor diluent	Cat. No. 0009757600

Quality control

Two levels of control are recommended for a complete quality control program.[18] Low and High D-Dimer Controls are designed for this program. Each laboratory should establish its own mean and standard deviation and should establish a quality control program to monitor laboratory testing. Controls should be analyzed at least once every 8 hour shift in accordance with good laboratory practice. Refer to the instrument's Operator's Manual for additional information. Refer to Westgard *et al* for identification and resolution of out-of-control situations.[19]

Traceability of calibrators and control materials

The reported values were determined over multiple runs on IL Coagulation Systems using specific lots of reagents and against an internal House Standard.

Since a D-Dimer International Standard is not currently available the House Standard has been assigned according to the harmonisation criteria proposed by W. Niewenhuizen.[20,21]

Results

D-Dimer results are reported in ng/mL. Refer to the instrument's Operator's Manual for additional information.

Note: Due to the lack of a International Reference Standard some manufacturers express D-Dimer results in FEU (Fibrinogen Equivalent Unit). The equivalence between these two measurement units is approximately 2 FEU = 1 ng/mL.[22]

Limitations/interfering substances

D-Dimer results on the ACL TOP are not affected by hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 18 mg/dL, triglycerides up to 1327 mg/dL and Rheumatoid Factor up to 1400 IU/mL.

The monoclonal antibody (MA-8D3) used in the D-Dimer HS Latex Reagent has major specificity for the D-Dimer domain of cross-linked Fibrin Degradation Products. A low cross-reactivity to Fibrinogen Degradation Products was seen with plasma samples spiked with purified Fragments D and E above 10 µg/mL.

Specimens from patients who have received preparation of mouse monoclonal antibody for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibody (HAMA).
The presence of HAMA may cause an over-estimation of results in immunoassays that utilize mouse monoclonal antibodies.
HemosIL D-Dimer HS Reaction Buffer contains a blocking agent against HAMA to minimize this interference on the assay results.

Expected values

A normal range study was performed using 234 individual blood bank donor samples.

System	N	Upper Normal Range (units)
ACL TOP	234	243 ng/mL

Due to many variables which may affect results (including the population age),[23,24] each laboratory should establish its own normal range.

The assay results should be used with other information, including the clinical context, in forming a diagnosis.

Performance characteristics

Precision:

Within run and total (run to run and day to day) precision was assessed over multiple runs.

ACL TOP	Mean (ng/mL)	CV% (Within run)	CV% (Total)
D-Dimer Plasma Pool	180	8.3%	11.0%
Low D-Dimer Control	314	3.7%	7.0%
High D-Dimer Control	677	2.0%	7.0%

Correlation:[21]

System	Slope	Intercept	r	Reference method
ACL TOP	0.95	-50.3	0.973	HemosIL D-Dimer on ACL TOP

In additional clinical study comparing this D-Dimer kit to the already commercially available HemosIL D-Dimer kit, samples from 166 patients (17 normals, 32 with DIC, 11 with DVT, 17 with PE and 89 with various disease states) were evaluated. The correlation (r) was 0.961 on the ACL TOP (n=166). Elevated levels of D-Dimer were seen in all the samples from clinically diagnosed DIC, PE and DVT patients.

An outcome study was performed on 300 frozen samples from patients admitted consecutively to an emergency unit with suspected PE or DVT (frequency of venous thromboembolic disease: 26%). Of the 300 samples, 78 were confirmed as VTE positive (47 PE and 31 DVT) by standard objective tests and the remaining 222 were confirmed as negative.

The results summarized below are based on a cut-off of 230 ng/mL:

System	N	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Negative Predictive Value (95% CI)
ACL TOP	300	100%	46.8%	100%
		(95.4% - 100%)	(40.1% - 53.6%)	(96.5% - 100%)

Clinical performance in the evaluation of outpatients suspected of deep venous thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE) using HemosIL D-Dimer HS in conjunction with the patient's pretest probability (PTP) score to exclude venous thromboembolism (VTE).

A multi-center management study was performed at four hospitals on 668 samples from patients admitted consecutively to the emergency unit with suspected DVT or PE.
307 patients were suspected of DVT and 361 patients were suspected of PE. As part of the study, patients underwent a PTP (pretest probability) assessment using the Wells model and were classified as having a high, moderate or low probability of DVT or PE. Patients with a negative D-Dimer test result and a low PTP score underwent no further diagnostic testing and were followed-up after 3 months for development of DVT or PE . For patient with a negative D-Dimer test result and a moderate PTP, it was the physician's decision whether to follow-up after 3 months or to undergo imaging techniques. Patients with a positive D-Dimer test result or a high PTP score underwent imaging techniques.

The overall prevalence of DVT in the total population of samples was 20.2% (62/307). The overall prevalence of PE in the total population of samples was 16.1% (58/361).As of the 3 month follow-up, none of the patients that were negative through D-Dimer testing had developed DVT or PE.

The sensitivity, specificity and negative predictive value (NPV) of HemosIL D-Dimer HS for DVT and PE using the previously established clinical cut-off of 230 ng/mL is summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI):

DVT Performance	All samples	High PTP	Low + Moderate PTP
n	307	54	253
Sensitivity	100.0% (62/62) (94.2%-100.0%)	100.0% (28/28) (87.7%-100.0%)	100.0% (34/34) (89.7%-100.0%)
Specificity	38.4% (94/245) (32.2%-44.8%)	34.6% (9/26) (17.2%-55.7%)	38.8% (85/219) (32.3%-45.6%)
Negative Predictive value	100.0% (94/94) (96.2%-100.0%)	100.0% (9/9) (66.4%-100.0%)	100.0% (85/85) (95.8%-100.0)

PE Performance	All samples	High PTP	Low + Moderate PTP
n	361	28	333
Sensitivity	100.0% (58/58) (93.8%-100.0%)	100.0% (10/10) (69.2%-100.0%)	100.0% (48/48) (92.6%-100.0%)
Specificity	35.6% (108/303) (30.2%-41.3%)	16.7% (3/18) (3.6%-41.4%)	36.8% (105/285) (31.2%-42.7%)
Negative Predictive value	100.0% (108/108) (96.6%-100.0%)	100.0% (3/3) (29.2%-100.0%)	100.0% (105/105) (96.5%-100.0%)

The precision and correlation results were obtained using specific lots of reagents and controls.

Detection limit:

System	
ACL TOP	21 ng/mL

Linearity:

System	Auto Rerun off	Auto Rerun on
ACL TOP	150 - 3680 ng/mL	150 - 69000 ng/mL

When the rerun capability of the instrument is activated, the instrument makes an on-board dilution and corrects the final result for the dilution factor thereby expanding the test range to 69000 ng/mL. If the result still exceeds the expanded range, i.e. samples reporting above 69000 ng/mL, then the sample should be manually diluted 1:100 with Factor Diluent (20 µL of sample + 1980 µL of Factor diluent) and reassayed in the standard assay. The result must be multiplied by 100 to correct for the dilution.

The assay does not show prozone effect up to 197000 ng/mL.

D-Dimer HS - 0020007700

ESPAÑOL - Revisión Prospecto 04/2010

Aplicación

HemosIL D-Dimer HS es un inmunoensayo de partículas de látex automatizado en el ACL TOP™, para la determinación cuantitativa de Dímero-D en plasma humano citratado. Su utilización conjunta con un modelo de valoración clínica de la probabilidad pretest (PTP) permite la exclusión del diagnóstico de tromboembolismo venoso (TEV) en pacientes ambulatorios con sospecha clínica de trombosis venosa profunda (TVP) o tromboembolismo pulmonar (TEP).

Principio

La degradación por plasmina de fibrina entrelazada por el Factor XIIIa, genera una serie de derivados solubles que contienen el dominio Dímero-D (XDP).[1] Cuando la plasmina, una serinproteasa, queda libre de inhibidores, digiere la fibrina entrelazada generando una gran variedad de derivados solubles cuyos pesos moleculares dependen de la extensión de la digestión. Estos productos solubles de degradación de la fibrina contienen un neoantígeno (dominio Dímero-D) que no está presente en la molécula original de fibrinógeno, en sus productos de degradación o en la fibrina soluble.[2,3] La determinación de Dímero-D es una herramienta cada vez más utilizada para el diagnóstico de trombosis y para la monitorización de terapias trombolíticas.[4] Ejemplos de condiciones clínicas que cursan con niveles elevados de Dímero-D son la trombosis venosa profunda (TVP), embolismo pulmonar (EP) y la coagulación intravascular diseminada (CID).[5] Durante un embarazo de desarrollo normal los niveles de Dímero-D se elevan aunque mucho menos que en aquellos embarazos asociados a complicaciones.[6]

Un resultado negativo de Dímero-D, cuando se combina con una valoración clínica de baja probabilidad, ha demostrado tener un alto valor predictivo negativo para TVP o EP.[7-13]

El Reactivo Látex Dímero-D HS es una suspensión de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme, a las que se les ha unido el fragmento $F(ab')_2$ de un anticuerpo monoclonal altamente específico contra el dominio Dímero-D contenido en los derivados solubles de la fibrina. El uso del fragmento $F(ab')_2$ permite una detección más específica del Dímero-D evitando la interferencia de algunos factores endógenos como el Factor Reumatoide. Cuando se mezcla un plasma que contiene Dímero-D con el Reactivo Látex y el Tampón de Reacción, las partículas aglutinan. El grado de aglutinación es directamente proporcional a la concentración de Dímero-D contenido en la muestra y se determina midiendo el descenso de la luz transmitida (inmunoensayo turbidimétrico).[14]

Composición

El kit de **D-Dimer HS** consiste en:

- **R** **Latex Reagent** (Núm. Cat. 0020007720): 3 viales de 2 mL de una suspensión liofilizada de partículas de látex de poliestireno a las que se les ha unido el fragmento $F(ab')_2$ de un anticuerpo monoclonal de ratón (MA-8D3) específico contra el Dímero-D. Se presenta liofilizado. Contiene albúmina de suero bovino, tampón, estabilizantes y conservante.
- **B** **Reaction Buffer** (Núm. Cat. 0020007721): 3 viales de 8 mL de un tampón fosfato que contiene albúmina de suero bovino, estabilizantes y conservante.
- **C** **D-Dimer Calibrator** (Núm. Cat. 0020007722): 2 viales de 1 mL de una disolución de Dímero-D parcialmente purificado a partir de fibrina humana digerida con plasmina. Se presenta liofilizado. Contiene albúmina de suero bovino, conservante y estabilizantes.

MEDIDAS DE PRECAUCIÓN Y ADVERTENCIAS:
El material usado en este producto ha sido verificado por métodos aprobados por la FDA y encontrado no reactivo al Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg), a los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV 1/2. Manejar con precaución como si fuese potencialmente infeccioso.[15]

El Tampón de Reacción contiene azida sódica (0,1%), que puede reaccionar con las tuberías metálicas dando lugar a azidas altamente explosivas. Tomar las precauciones adecuadas para su desecho.

Evítese el contacto con los ojos y la piel (S 24/25). No tirar los residuos por el desagüe (S 29). Úsese indumentaria protectora adecuada (S 36).

Este producto es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Latex Reagent: Disolver el contenido del vial con 2 mL de agua Tipo CLRW según CLSI (anteriormente NCCLS) o equivalente.[16] Tapar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15-25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Reaction Buffer: Mezclar suavemente por inversión del vial. El reactivo está listo para su uso. No agitar.

D-Dimer Calibrator: Disolver el contenido del vial con 1 mL de agua Tipo CLRW según CLSI o equivalente.[16] Tapar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15-25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Nota: Evitar la formación de espuma al homogeneizar los reactivos y el calibrador reconstituidos. Las burbujas en la superficie del líquido pueden interferir con los sensores de nivel de líquido de los instrumentos.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los viales que no hayan sido abiertos y se hayan conservado a 2-8°C son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Latex Reagent - Estabilidad una vez reconstituido: 1 mes a 2-8°C en el vial original o 4 días a 15°C en el ACL TOP™. No congelar.

Reaction Buffer - El reactivo abierto es estable durante 1 mes a 2-8°C en el vial original o 4 días a 15°C en el ACL TOP.

D-Dimer Calibrator - Estabilidad una vez reconstituido: 3 días a 15-25°C, 1 mes a 2-8°C o 2 meses a -20°C en el vial original. El calibrador se puede descongelar a 37°C. Homogeneizar suavemente antes de su uso. No recongelar.

Para una óptima estabilidad sacar los reactivos de los instrumentos y conservarlos a 2-8°C en sus viales originales bien tapados.

Método de ensayo

Las instrucciones completas del ensayo se encuentran en el correspondiente Manual del Usuario del instrumento y/o en el Manual de Aplicaciones.

Recolección y preparación de las muestras

Recoger nueve partes de sangre reciente extraída por punción venosa sobre una parte de anticoagulante citrato trisódico. Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del Documento H21-A4 de la CLSI.[17]

Si se han congelado las muestras, descongelarlas rápidamente a 37°C y centrifugarlas antes de analizarlas. Se debe realizar el ensayo de las muestras dentro de las dos horas siguientes a su descongelación y centrifugación.

Reactivos adicionales y plasmas de control

Los siguientes reactivos y controles no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

Controles de Dímero-D	Núm. Cat. 0020008610
Diluyente de factores	Núm. Cat. 0009757600

Control de Calidad

Para realizar un programa completo de control de calidad, se recomienda el uso de dos niveles de control, Controles de Dímero-D Bajo y Alto.[18] Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar, y debe realizar un programa de control de calidad para monitorizar sus resultados. Los controles deben ser analizados como mínimo una vez para cada turno de 8 horas, de acuerdo con la buena práctica de laboratorio. El Manual del Usuario contiene información adicional. Consultar la publicación de Westgard *et al* para la identificación y resolución de situaciones anormales del control de calidad.[19]

Trazabilidad de los calibradores y controles

Los valores indicados fueron obtenidos a través de múltiples determinaciones en los sistemas de coagulación de IL usando lotes específicos de reactivos y un Estándar interno.
Como no hay Estándar Internacional de Dímero-D disponible, el valor de este Estándar interno ha sido asignado siguiendo el criterio de armonización propuesto por W. Niewenhuizen.[20,21]

Resultados

Los resultados se informan como ng/mL de Dímero-D. Consultar el Manual del Usuario para información adicional.

Nota: Debido a la falta de Estándar Internacional de Dímero-D algunos fabricantes expresan los resultados de Dímero-D en UEF (Unidades Equivalentes de Fibrinógeno). La equivalencia entre las dos unidades de medida es aproximadamente 2 UEF = 1 ng/mL.[22]

Limitaciones/interferencias

Concentraciones de hemoglobina hasta 500 mg/dL, de bilirrubina hasta 18 mg/dL, de triglicéridos hasta 1327 mg/dL y de Factor Reumatoide hasta 1400 UI/mL no afectan los resultados de Dímero-D en el ACL TOP.

El anticuerpo monoclonal (MA-8D3) utilizado en el Reactivo Látex Dímero-D HS tiene especificidad principalmente por el dominio Dímero-D de los productos de degradación de la fibrina entrelazada. Se ha observado una ligera reacción cruzada con productos de degradación del fibrinógeno en muestras de plasma a las que se les ha añadido más de 10 µg/mL de los fragmentos purificados D y E.

Las muestras de pacientes que han recibido preparados de anticuerpos monoclonales con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). La presencia de HAMA puede causar una sobrevaloración de los resultados en inmunoensayos que utilicen anticuerpos monoclonales de ratón.
El HemosIL D-Dimer HS Reaction Buffer contiene un agente bloqueante de los HAMA para minimizar su interferencia en los resultados del análisis.

Valores esperados

Se ha realizado un estudio del rango de normalidad utilizando 234 muestras individuales de donantes de banco de sangre.

Sistema	N	Límite Superior del Rango (unidades)
ACL TOP	234	243 ng/mL

Debido a las muchas variables que pueden afectar a los resultados (incluida la edad de la población),[23,24] cada laboratorio debe establecer su propio rango de normalidad.
Para establecer un diagnóstico, los resultados del análisis deben ser usados conjuntamente con el resto de información, incluyendo el contexto clínico.

Características técnicas

Precisión:

El estudio de precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizado en diferentes series.

ACL TOP	Media (ng/mL)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Pool Plasma Dímero-D	180	8,3%	11,0%
Control Dímero-D Bajo	314	3,7%	7,0%
Control Dímero-D Alto	677	2,0%	7,0%

Correlación:[21]

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de referencia
ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL D-Dimer en ACL TOP

En un estudio clínico adicional, se ha comparado este kit de Dímero-D con el kit HemosIL D-Dimer ya disponible comercialmente. Se analizaron muestras de 166 pacientes (17 normales, 32 con CID, 11 con TVP, 17 con EP y 89 con diversos estados trombóticos). Se obtuvo una correlación (r) de 0,961 en el ACL TOP (n=166). A todos los pacientes con un diagnóstico clínico de TVP, EP o CID se les encontró un nivel elevado de Dímero-D.

Se realizó un estudio externo con 300 muestras congeladas no seleccionadas de pacientes admitidos en una unidad de emergencia por sospecha de EP o TVP (frecuencia de enfermedad tromboembólica venosa: 26%). De las 300 muestras, 78 se confirmaron como TEV positivas (47 EP y 31 TVP) con tests "objetivos" estándares y las 222 restantes se confirmaron como negativas.

Los resultados resumidos a continuación se basan en un cut-off de 230 ng/mL.

Instrumento: Sistema	N	Sensibilidad (95% IC)	Especificidad (95% IC)	Valor Predictivo Negativo (95% IC)
ACL TOP	300	100% (95,4% - 100%)	46,8% (40,1% - 53,6%)	100% (96,5% - 100%)

Estudio clínico de evaluación de pacientes ambulatorios con sospecha de trombosis venosa profunda (TVP) y tromboembolismo pulmonar (TEP) utilizando el HemosIL D-Dimer HS conjuntamente con el resultado de la valoración clínica de la probabilidad pretest (PTP) para excluir el diagnóstico de tromboembolismo venoso (TEV).
Se realizó un estudio multi-céntrico en 4 hospitales sobre 668 muestras de pacientes admitidos consecutivamente en la unidad de urgencias con sospecha clínica de TVP o TEP. De todos estos 307 pacientes con sospecha de DVT y 361 pacientes con sospecha de TEP. Como parte del estudio, los pacientes fueron sometidos a una valoración de la probabilidad pretest (PTP) usando el modelo de Wells y fueron clasificados de tener una alta, media o baja probabilidad de TVP o TEP. Los pacientes con un valor negativo de Dímero-D y una PTP baja no fueron sometidos a pruebas de diagnóstico adicionales y fueron examinados al cabo de 3 meses para descartar la evolución a TVP o TEP. En los pacientes con un valor negativo de Dímero-D y una PTP moderada, quedó a criterio del facultativo la realización de una revisión a los 3 meses o proceder con técnicas de imagen. Los pacientes con un resultado positivo de Dímero-D o una PTP alta fueron sometidos a técnicas de imagen.

La prevalencia general de TVP en el total de las muestras fue de un 20,2% (62/307). La prevalencia general de TEP en el total de las muestras fue de un 16,1% (58/361). Después del seguimiento de los 3 meses, ninguno de los pacientes que había dado un test negativo de Dímero-D desarrolló TVP o TEP.

La sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo (VPN) del HemosIL D-Dimer HS utilizando el cut-off previamente establecido de 230 ng/mL, con los correspondientes intervalos de confianza (CI) del 95%, se resumen a continuación:

TVP	Todas las muestras	PTP alta	PTP Baja + media
n	307	54	253
Sensibilidad	100,0% (62/62) (94,2%-100,0%)	100,0% (28/28) (87,7%-100,0%)	100,0% (34/34) (89,7%-100,0%)
Especificidad	38,4% (94/245) (32,2%-44,8%)	34,6% (9/26) (17,2%-55,7%)	38,8% (85/219) (32,3%-45,6%)
Valor Predictivo Negativo	100,0% (94/94) (96,2%-100,0%)	100,0% (9/9) (66,4%-100,0%)	100,0% (85/85) (95,8%-100,0)

TEP	Todas las muestras	PTP alta	PTP Baja + media
n	361	28	333
Sensibilidad	100,0% (58/58) (93,8%-100,0%)	100,0% (10/10) (69,2%-100,0%)	100,0% (48/48) (92,6%-100,0%)
Especificidad	35,6% (108/303) (30,2%-41,3%)	16,7% (3/18) (3,6%-41,4%)	36,8% (105/285) (31,2%-42,7%)
Valor Predictivo Negativo	100,0% (108/108) (96,6%-100,0%)	100,0% (3/3) (29,2%-100,0%)	100,0% (105/105) (96,5%-100,0%)

La precisión y los datos de correlación se han obtenido usando lotes específicos de reactivos y de controles.

Límite de detección:

Sistema	
ACL TOP	21 ng/mL

Linealidad:

Sistema	Sin Auto Rerun	Con Auto Rerun
ACL TOP	150 - 3680 ng/mL	150 - 69000 ng/mL

Cuando el instrumento tiene activada la capacidad "rerun", el instrumento realiza una dilución automática y corrige el resultado final por el factor de dilución, expandiendo el rango del test a 69000 ng/mL. Si el resultado todavía es superior al rango válido expandido, es decir las muestras que informen resultados por encima de 69000 ng/mL, deben diluirse manualmente 1:100 con el Diluyente de factores (20 µL de muestra + 1980 µL de Diluyente) y reanalizarse como si fuera una muestra normal. Los resultados deben corregirse multiplicando por 100, el factor de dilución.

El ensayo no tiene efecto de prozona (es decir, inhibición por exceso de antígeno) hasta 197000 ng/mL

D-Dimer HS - 0020007700

DEUTSCH - Packungsbeilage Version 04/2010

Verwendung

Der HemosIL D-Dimer HS Test ist ein vollautomatischer Latex-Immunoassay zur quantitativen Bestimmmung von D-Dimer im menschlichen Plasma auf ACL TOP-Analysensystemen. Er wird eingesetzt in Verbindung mit einem klinischen Vorhersagewert (PTP) zum Ausschluss von venösen Thromboembolien (VTE) bei ambulanten Patienten mit Verdacht auf eine tiefe Venenthrombose (DVT) und Lungenembolie (PE).

Testprinzip und Zusammenfassung

D-Dimere entstehen bei der proteolytischen Spaltung des durch F XIII stabilisierten, quervernetzten Fibrins unter der Einwirkung von Plasmin.[1] Plasmin, eine Serinprotease, verdaut in Abwesenheit von Inhibitoren das unlösliche quervernetzte Fibrin, wobei eine Vielzahl löslicher Derivate entsteht. Ihr Molekulargewicht ist abhängig vom Grad der Verdauung. Diese löslichen
Fibrin-Spalt-Produkte enthalten ein Neoantigen (D-Dimer Domaine), welches weder im ursprünglichen Fibrinogen-Molekül, den entsprechenden Fibrinogen-Spalt-Produkten noch in löslichem Fibrin vorhanden ist.[2,3] Die Bestimmung von D-Dimeren ist heute in vielen Laboren zum Nachweis von Thrombosen und zur Überwachung thrombolytischer Therapien unerlässlich.[4] Erhöhte D-Dimer-Spiegel sind unter anderem bei tiefen Venenthrombosen (DVT), Lungenembolien (PE) und disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) zu finden.[5] Auch bei normal verlaufenden Schwangerschaften können erhöhte D-Dimer Spiegel auftreten, sehr hohe Werte sind jedoch meist mit Komplikationen verbunden.[6]

Ein negatives D-Dimer Resultat in Kombination mit einem unauffälligen klinischen Bild hat einen hohen negativen Vorhersagewert beim Ausschluss einer DVT oder PE gezeigt.[7-13]

Das D-Dimer HS Latex Reagenz ist eine Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln einheitlicher Größe, die mit $F(ab')_2$ Fragment von monoklonalen Antikörpern, hochspezifisch für D-Dimer-haltige Fibrinspaltprodukte, beschichtet sind.
Die Verwendung des $F(ab')_2$ Fragments erlaubt eine spezifischere Bestimmung des D-Dimer, da Interferenzen mit endogenen Faktoren wie z.B. Rheumafaktor verhindert werden. In Anwesenheit von D-Dimer im Plasma agglutinieren die mit monoklonalen Antikörpern beschichteten Latexpartikeln. Der Grad der Agglutination nimmt proportional zur D-Dimer-Konzentration in der Probe zu. Die Bestimmung erfolgt durch die Messung der durch die Agglutination bedingten Abnahme der Lichtdurchlässigkeit (turbidimetrischer Immunoassay).[14]

Inhalt

Die **D-Dimer HS** Packung enthält:

- **R** **Latex Reagent** (Art. Nr. 0020007720): 3 Flaschen x 2 mL lyophilisierte Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln beschichtet mit gegen D-Dimer gerichteten $F(ab')_2$ Fragment von monoklonalen Antikörpern (MA-8D3), die bovines Serum-Albumin, Puffer, Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthält.
- **B** **Reaction Buffer** (Art. Nr. 0020007721): 3 Flaschen x 8 mL mit Phosphatpuffer, der bovines Serum-Albumin, Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthält.
- **C** **D-Dimer Calibrator** (Art. Nr. 0020007722): 2 Flaschen x 1 mL einer lyophilisierten Lösung von D-Dimer gereinigt aus Fibrin, das mit Plasmin verdaut wurde, die bovines Serum-Albumin, Puffer, Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthält.

WARNUNG:
Das verwendete Material wurde mit FDA anerkannten Testmethoden auf HIV 1/2-Antikörper, Hepatitis-B-Antigen und HCV-Antigen geprüft. Bitte beachten Sie die Bestimmungen zum Umgang mit potentiell infektiösen Materialien.[15]
Der Reaktionspuffer enthält weniger als 0,1% Natriumazid (Natriumazid kann in metallenen Abflussrohren potentiell explosive Azide bilden). Bitte die entsprechenden Abfallbeseitigungsvorschriften beachten.
Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden (S 24/25). Nicht in die Kanalisation gelangen lassen (S 29). Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen (S 36).
Dieses Produkt ist nur für die *in vitro* Diagnostik geeignet.

Herstellung

Latex Reagent: Zum Inhalt einer Flasche wird 2 mL Aqua dest. pipettiert und durch leichtes Schwenken gelöst.[16] Nach vollständiger Rekonstitution wird das Reagenz 30 Minuten bei 15-25°C inkubiert und dann unter vorsichtigem Schwenken erneut gemischt. Nicht schütteln.
Reaction Buffer: Gebrauchsfertig. Vor Gebrauch vorsichtig schwenken, nicht schütteln.
D-Dimer Calibrator: Zum Inhalt einer Flasche wird 1 mL Aqua dest. pipettiert und durch leichtes Schwenken gelöst.[16] Nach vollständiger Rekonstitution wird das Reagenz 30 Minuten bei 15-25°C inkubiert und dann unter vorsichtigem Schwenken erneut gemischt. Nicht schütteln.
Hinweis: Schaumbildung bei der Homogenisierung des rekonstituierten Reagenzes und Kalibrators vermeiden. Auf der Flüssigkeitsoberfläche befindliche Luftblasen können den Flüssigkeitssensor des Gerätes beeinträchtigen.

Lagerung und Haltbarkeit

Die ungeöffneten Reagenzien sind bei Lagerung zwischen 2-8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
Latex Reagent - Haltbarkeit nach Rekonstitution:
- bei 2-8°C in der Originalflasche: 1 Monat
- im ACL TOP: 4 Tage

Nicht einfrieren.
Reaction Buffer - geöffnetes Reagenz:
- bei 2-8°C in der Originalflasche: 1 Monat
- im ACL TOP: 4 Tage

D-Dimer Calibrator - Haltbarkeit nach Rekonstitution:
- bei 15-25°C in der Originalflasche: 3 Tage
- bei 2-8°C in der Originalflasche: 1 Monat
- bei -20°C in der Originalflasche: 2 Monate

Tiefgefrorener Kalibrator sollte bei 37°C aufgetaut und vor dem Gebrauch vorsichtig geschwenkt werden. Nicht wieder einfrieren. Für eine optimale
Haltbarkeit sollten die Reagenzien nach dem Gebrauch aus dem Gerät entnommen und im Kühlschrank bei 2-8°C in der Originalflasche aufbewahrt werden.

Bestimmungsansatz

Die ausführliche Beschreibung des Bestimmungsansatzes ist dem Geräte-Bedienerhandbuch und dem Applikationshandbuch zu entnehmen.

Probenmaterial und -gewinnung

9 Teile frisches venöses Blut und 1 Teil Trinatriumcitratlösung werden sorgfältig in einem silikonisierten Glasröhrchen gemischt. Hinweise zur Aufbereitung des Blutes sind den Empfehlungen des Deutschen Instituts für Normung - DIN 58 905 - oder dem CLSI Document H21-A4 zu entnehmen.[17]

Eingefrorene Proben rasch bei 37°C auftauen und anschließend zentrifugieren. Aufgetaute Proben müssen innerhalb von 2 Stunden analysiert werden.

Zusätzliche Reagenzien und Kontrollplasmen

Die folgenden Reagenzien sind nicht in der Packung enthalten und müssen zusätzlich bestellt werden:

D-Dimer Kontrollen	Art. Nr. 0020008610
Faktor Diluent	Art. Nr. 0009757600

Qualitätskontrolle

Es ist gängige Laborpraxis, die Qualität der Analyse mit Kontrollmaterialien in zwei Bereichen zu überprüfen (D-Dimer Kontrolle hoher und niedriger Bereich).[18] Jedes Labor sollte für das Qualitätskontroll-Programm seinen eigenen Mittelwert ± 2 Standardabweichung (s) ermitteln. Spätestens nach jeweils 8 Stunden sollte eine Qualitätskontrolle durchgeführt werden. Algorithmen zur Beurteilung der Qualitätskontrollergebnisse siehe z.B Westgard *et al.*[19] Siehe auch „Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen" in der jeweils gültigen Fassung.

Standardisierung des Kalibrators und der Kontrollmaterialien

Die angegebenen Referenzwerte wurden bei mehreren Läufen an IL Gerinnungsautomaten mit spezifischen Reagenzienchargen und gegen einen internen "Haus-Standard" ermittelt. Da momentan noch kein internationaler D-Dimer Standard verfügbar ist, wurden die Werte des "Haus-Standards" gemäß den von W. Niewenhuizen[20,21] vorgeschlagenen Harmonisationskriterien ermittelt.

Ergebnisse

D-Dimer Ergebnisse werden in ng/mL dargestellt. Weitere Informationen sind dem Bedienerhandbuch zu entnehmen.

Hinweis: Aufgrund des fehlenden internationalen Referenz-Standards geben einige Hersteller D-Dimer Ergebnisse in FEU (Fibrinogen Equivalent Unit) an. 2 FEU entsprechen ca. 1 ng/mL.[22]

Einschränkungen

D-Dimer Ergebnisse auf ACL TOP-Analysensystemen werden durch Konzentrationen an Hämoglobin bis zu 500 mg/dL, Bilirubin bis zu 18 mg/dL, Triglyceriden bis zu 1327 mg/dL und Rheumafaktor bis zu 1400 IU/mL nicht beeinflusst.
Der monoklonale Antikörper (MA-8D3), der im D-Dimer HS Latex-Reagenz eingesetzt wird, ist weitgehend spezifisch für die D-Dimer Domaine der quervernetzten Fibrin-Abbau-Produkte. Eine schwache Kreuzreaktion mit Fibrinogen-Abbau-Produkten wurde in Plasmaproben, versetzt mit gereinigten Fragmenten D und E mit Konzentrationen über 10 µg/mL, gefunden.
Proben von Patienten, die Präparationen von monoklonalen Maus-Antikörpern aus diagnostischen oder therapeutischen Gründen erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper enthalten (HAMA). HAMA im Plasma können zu einer Überschätzung der Ergebnisse von Immunoassays führen, die monoklonale Maus-Antikörper verwenden. Der Reaktionspuffer des HemosIL D-Dimer HS Testes enthält eine hemmende Substanz gegen HAMA zur Minimierung der Interferenzen auf das Testergebnis.

Referenzbereiche

Eine Studie zur Bestimmung des Normalbereichs wurde anhand von 234 Blutspendern durchgeführt.

System	N	Oberer Normalbereich (Einheit)
ACL TOP	234	243 (ng/mL)

Aufgrund verschiedener Variablen, die die Gerinnungszeit beeinflussen können (einschließlich Alter der Bevölkerung),[23-24] wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen Normalbereich ermittelt.
Die Testergebnisse sollten bei der Diagnosestellung immer im Zusammenhang mit weiteren Informationen, wie z.B. dem klinischen Kontext, herangezogen werden.

Testcharakteristik

Präzision:

Die Präzision im Lauf und von Tag zu Tag wurde bei mehreren Läufen bestimmt.

ACL TOP	Mittelwert (ng/mL)	VK % (im Lauf)	VK % (Tag zu Tag)
D-Dimer Plasma Pool	180	8,3%	11,0%
D-Dimer Kontrolle niedriger Bereich	314	3,7%	7,0%
D-Dimer Kontrolle hoher Bereich	677	2,0%	7,0%

Korrelation:[21]

System	Steigung	Ordinatenabschnitt	r	Referenzmethode
ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL D-Dimer auf ACL TOP

In einer zusätzlichen Vergleichsstudie zwischen dem D-Dimer HS und dem bereits kommerziell verfügbaren HemosIL D-Dimer, wurden 166 Patientenplasmen (17 normale, 32 mit DIC, 11 mit DVT, 17 mit PE und 89 mit verschiedenen Krankheitsbildern) untersucht. Die Korrelation (r) am ACL TOP betrug 0,961 (n=166). Erhöhte D-Dimer Spiegel wurden in allen Plasmen von Patienten mit klinisch diagnostizierter DIC, PE und DVT gefunden.
Es wurde eine Studie mit 300 gefrorenen Proben von Patienten durchgeführt, die mit Verdacht auf PE oder DVT an eine Notfallstation überführt wurden (Häufigkeit von venösen thromboembolischen Erkrankungen: 26%). Von den 300 Proben wurden 78 durch objektive Standardverfahren als VTE positiv bestätigt (47 PE und 31 DVT), die verbleibenden 222 wurden als negativ bestätigt.
Die unten aufgeführten Ergebnisse basieren auf einem Cut-Off von 230 ng/mL:

Gerät: System	N	Sensitivität (95% C.I.)	Spezifität (95% C.I.)	Negativer Vorhersagewert (95% C.I.)
ACL TOP	300	100%	46,8%	100%
		(95,4% - 100%)	(40,1% - 53,6%)	(96,5% - 100%)

Klinische Leistungsfähigkeit bei der Evaluierung von ambulanten Patienten mit Verdacht auf eine tiefe Venenthrombose (DVT) und Lungenembolie (PE) unter Verwendung des HemosIL D-Dimer HS Testes in Verbindung mit dem klinischen Vorhersagewert (PTP) zum Ausschluss einer venösen Thromboembolie (VTE).

An vier Krankenhäusern wurde eine Multicenter-Management-Studie mit 668 Proben von Patienten durchgeführt, die mit Verdacht auf DVT oder PE an eine Notfallstation überführt wurden. 307 Patienten hatten Verdacht auf DVT und 361 auf PE. Als Teil der Studie wurden die Patienten der PTP Beurteilung unter Verwendung des Wells Score unterzogen. Die Patienten wurden klassifiziert nach hohem, moderatem oder niedrigem Vorhersagewert für DVT oder PE. Patienten mit einem negativen D-Dimer Ergebnis und einem niedrigen PTP score erhielten keine weitere diagnostische Untersuchung. Es wurde ein follow-up nach 3 Monaten für die Entwicklung einer DVT oder PE durchgeführt. Bei Pateinten mit einem negativen D-Dimer Ergebnis und einem moderaten PTP score lag die Entscheidung beim behandelnden Arzt, ob ein follow-up nach 3 Monaten oder ein bildgebendes Verfahren angeschlossen wurde. Patienten mit einem positiven D-Dimer Ergebnis oder einem hohen PTP score wurden mit bildgebenden Verfahren weiter untersucht.
Die Prävalenz für DVT im Patientenkollektiv lag bei 20,2% (62/307). Die Prävalenz für PE im Patientenkollektiv lag bei 16,1% (58/361). Keiner der Patienten, die bei der D-Dimer Bestimmung negativ waren, hatte zum Zeitpunkt des follow-up nach 3 Monaten eine DVT oder PE entwickelt.
Die Sensitivität, Spezifität und der negative Vorhersagewert (NPV) von HemosIL D-Dimer HS für eine DVT und PE unter Verwendung des bereits etablierten klinischen Cut-off Wertes von 230 ng/mL ist in der unten aufgeführten Tabelle mit dem korrespondierenden 95% Konfidenz-Intervall (CI) aufgeführt:

DVT	Alle Proben	hohe PTP	Moderate und niedrige PTP
N	307	54	253
Sensitivität	100,0% (62/62) (94,2%-100,0%)	100,0% (28/28) (87,7%-100,0%)	100,0% (34/34) (89,7%-100,0%)
Spezifität	38,4% (94/245) (32,2%-44,8%)	34,6% (9/26) (17,2%-55,7%)	38,8% (85/219) (32,3%-45,6%)
Negativer Prädiktiver Wert	100,0% (94/94) (96,2%-100,0%)	100,0% (9/9) (66,4%-100,0%)	100,0% (85/85) (95,8%-100,0)

PE	Alle Proben	hohe PTP	Moderate und niedrige PTP
N	361	28	333
Sensitivität	100,0% (58/58) (93,8%-100,0%)	100,0% (10/10) (69,2%-100,0%)	100,0% (48/48) (92,6%-100,0%)
Spezifität	35,6% (108/303) (30,2%-41,3%)	16,7% (3/18) (3,6%-41,4%)	36,8% (105/285) (31,2%-42,7%)
Negativer Prädiktiver Wert	100,0% (108/108) (96,6%-100,0%)	100,0% (3/3) (29,2%-100,0%)	100,0% (105/105) (96,5%-100,0%)

Die Ergebnisse sind mit spezifischen Reagenzien- und Kontrollchargen ermittelt worden.

Bestimmungsgrenze:

System	
ACL TOP	21 ng/mL

Linearität:

System	Auto Rerun aus	Auto Rerun an
ACL TOP	150 - 3680 ng/mL	150 - 69000 ng/mL

Wenn die Rerun Option des Gerätes eingeschaltet ist, werden vom Gerät on-board Verdünnungen gemacht und das Endergebnis automatisch mit dem Verdünnungsfaktor korrigiert. Dadurch vergrößert sich der Testbereich automatisch auf 69000 ng/mL. Sollte das Ergebnis dann immer noch den Messbereich überschreiten, d.h. Proben über 69000 ng/mL, müssen nach einer manuellen Verdünnung von 1:100 mit Faktordiluent (20 µL Plasma + 1980 µL Faktordiluent) die Proben erneut gemessen werden. Das Resultat muss dann mit 100 multipliziert werden um die Verdünnung zu korrigieren.
Der Test zeigt keinen Prozone-Effekt bis zu 197000 ng/mL.

D-Dimer HS - 0020007700

FRANÇAIS - Révision de la notice 04/2010

Utilisation

Le réactif HemosIL D-Dimer HS est un dosage immunologique Latex automatisé pour la détermination quantitative des D-Dimères contenus dans le plasma humain citraté sur les ACL TOP™. Utilisé en conjonction avec un modèle de probabilité de pré-test clinique (PTP), Il permet l'exclusion de la maladie thromboembolique veineuse (MTV) chez les patients suspectés de développer une thrombose veineuse profonde (TVP) et/ou une embolie pulmonaire (EP).

Principe

Les D-Dimères sont contenus dans les dérivés solubles formés de la dégradation par la plasmine de la fibrine stabilisée par le facteur XIIIa.[1] La plasmine est une sérine protéase qui, lorsqu'elle n'est pas dégradée par ses inhibiteurs, digère la fibrine stabilisée insoluble, produisant une variété de dérivés solubles. Leurs poids moléculaires dépendent de l'extension de la digestion. Ces produits solubles de dégradation de la fibrine contiennent un néoantigène (Domaine D-Dimère) qui n'est pas présent sur la molécule de fibrinogène originelle, mais sur les produits de dégradations ou sur la fibrine soluble.[2,3] La détermination des D-Dimères est devenue un outil répandu pour poser le diagnostic des thromboses et surveiller les traitements thrombolytiques.[4]

Des taux élevés de D-Dimères sont observés dans certaines conditions cliniques comme les thromboses veineuses profondes (TVP), les embolies pulmonaires (EP) et les coagulations intravasculaires disséminées (CIVD).[5]

Les taux de D-Dimères sont aussi augmentés durant la grossesse normale mais des taux très élevés sont associés à des complications.[6]

Un test D-Dimère négatif déterminé chez un patient dont le tableau clinique évoque une faible probabilité de MTV, a été montré comme ayant une forte valeur prédictive négative pour la TVP ou l'EP.[7-13]

Le Réactif latex de la trousse D-Dimère HS est une suspension de particules de latex de taille uniforme adsorbées avec le fragment $F(ab')_2$ d'un anticorps monoclonal hautement spécifique du domaine D-Dimère compris dans les dérivés solubles de fibrine.
L'utilisation du fragment $F(ab')_2$ permet une détection plus spécifique des D-Dimères en éliminant les interférences liées à des facteurs endogènes tels que les facteurs rhumatoïdes. Lorsqu'un plasma contenant des D-Dimères est mélangé avec le Réactif latex et le Tampon de réaction de la trousse D-Dimère HS, les particules de latex adsorbées agglutinent. L'importance de l'agglutination est directement proportionnelle à la concentration en D-Dimères de l'échantillon et est déterminée en mesurant la diminution de la lumière transmise due à la formation d'aggrégats (dosage immunoturbidimétrique).[14]

Composition

La trousse **D-Dimer HS (D-Dimère HS)** contient:

- **R** **Latex Reagent** (Réf. 0020007720): 3 flacons de 2 ml d'une suspension lyophilisée de particules de latex en polystyrène adsorbées avec le fragment $F(ab')_2$ d'un anticorps monoclonal (MA-8D3) dirigé contre les D-Dimères, contenant également de l'albumine bovine sérique, du tampon, des stabilisants et un conservateur.
- **B** **Reaction Buffer** (Réf. 0020007721): 3 flacons de 8 ml de tampon phosphate contenant de l'albumine bovine sérique, des stabilisants et un conservateur.
- **C** **D-Dimer Calibrator** (Réf. 0020007722): 2 flacons de 1 ml d'une solution lyophilisée de D-Dimères partiellement purifiés, provenant de fibrine humaine digérée par de la plasmine humaine, contenant également de l'albumine bovine sérique, du tampon, un stabilisant et des conservateurs.

PRECAUTIONS:
Ces réactifs contiennent des produits d'origine humaine. Ils ont été trouvés négatifs pour les anticorps anti VIH 1/2, anti VHC et l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs), en utilisant des trousses de dépistage de 3ème génération. Cependant, aucune technique ne permettant d'assurer l'absence totale du virus HIV ou de l'hépatite B ou de tout autre agent infectieux, ces réactifs sont à manipuler avec les précautions d'usage.[15]
Le Tampon de réaction contient moins de 0,1% d'azide de sodium comme conservateur. L'azide de sodium peut former des azides de plomb ou de cuivre avec les canalisations du laboratoire, susceptibles d'exploser par percussion. Pour cette raison, il est conseillé de rincer abondamment à l'eau après élimination des réactifs.
Éviter le contact avec la peau et les yeux (S 24/25). Ne pas jeter les résidus à l'égout (S 29). Porter un vêtement de protection approprié (S 36).
Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.

Préparation

Latex Reagent: Dissoudre le contenu de chaque flacon avec 2 ml d'eau de type CLRW selon les normes CLSI (anciennement NCCLS) ou équivalent.[16] Replacer le capuchon et agiter doucement. Assurez-vous de la complète reconstitution du produit. Conserver le réactif à 15-25°C pendant 30 minutes et mélanger doucement par inversion avant utilisation. Ne pas agiter violemment.
Reaction Buffer: Mélanger doucement par inversion avant utilisation. Le réactif est prêt à l'emploi. Ne pas agiter violemment.
D-Dimer Calibrator: Dissoudre le contenu de chaque flacon avec 1 ml d'eau de type CLRW selon les normes CLSI ou équivalent.[16] Replacer le capuchon et agiter doucement. Assurez-vous de la complète reconstitution du produit. Conserver le réactif à 15-25°C pendant 30 minutes et mélanger doucement par inversion avant utilisation. Ne pas agiter violemment.
Note: Eviter la formation de mousse lors de l'homogéinisation des réactifs et calibrateurs reconstitués. La présence de bulles d'air en surface du liquide peut entra"ner des interférences avec les détecteurs de fluidiques des instruments.

Conservation et stabilité des réactifs

Conservés à 2-8°C, les réactifs et calibrateurs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.
Latex Reagent - La stabilité du réactif reconstitué est de: 1 mois à 2-8°C dans le flacon d'origine ou 4 jours à 15°C sur les ACL TOP. Ne pas congeler.
Reaction Buffer - Après ouverture le réactif est stable 1 mois à 2-8°C dans le flacon d'origine ou 4 jours à 15°C sur les ACL TOP.
D-Dimer Calibrator - La stabilité du réactif reconstitué est de: 3 jours à 15-25°C, 1 mois à 2-8°C ou 2 mois à -20°C dans le flacon d'origine. Le calibrateur doit être décongelé à 37°C et mélangé doucement avant utilisation. Ne pas recongeler.
Pour une stabilité optimale, conserver les réactifs à 2-8°C dans le flacon d'origine entre chaque utilisation.

Procédures de test/Instrument

Se référer au mode d'emploi de l'instrument IL approprié et/ou au manuel d'application pour avoir des informations complètes sur les procédures de dosage.

Recueil des spécimens et préparation

9 parts de sang fraîchement prélevé sont collectées avec 1 part de citrate trisodique. Se référer au document CLSI H21-A4 ou au document GEHT (STV, numéro spécial, 1-40, 1998) pour plus d'informations sur le prélèvement des échantillons, leur manipulation et leur stockage.[17]
Les spécimens congelés doivent être décongelés rapidement à 37°C et centrifugés avant d'être dosés. Après décongélation le dosage doit être réalisé dans les 2 heures.

Réactifs auxiliaires et plasmas de contrôle

Non fournis avec la trousse, ils doivent faire l'objet d'une commande séparée.

Contrôles D-Dimère	Réf. 0020008610
Diluant facteur	Réf. 0009757600

Contrôle de qualité

Deux niveaux de contrôle sont recommandés pour un programme de contrôle de qualité complet.[18] Les contrôles D-Dimère Haut et Bas sont spécifiques à ce programme. Chaque laboratoire doit établir sa propre moyenne et déviation standard et son programme de contrôle de qualité pour vérifier les Tests. Les contrôles doivent être analysés au minimum toutes les 8 heures en concordance avec une bonne pratique de laboratoire. Se référer au mode d'emploi de l'instrument pour des informations complémentaires. Se reporter à Westgard *et al* pour l'identification et la résolution des contrôles hors limites.[19]

Détermination des valeurs des calibrateurs et contrôles

Les valeurs reportées dans les notices sont déterminées à partir d'essais multiples réalisés sur les systèmes de coagulation IL, en utilisant des lots spécifiques de réactif, et ce, par rapport à un Standard Interne (Etalon Secondaire).
Du fait qu'aucun Standard International D-Dimères n'est disponible à l'heure actuelle, la valeur du Standard Interne a été déterminée selon les critères d'harmonisation proposés par W. Niewenhuizen.[20,21]

Résultats

Les résultats de D-Dimères sont reportés en ng/ml. Se référer au mode d'emploi de l'instrument pour des informations complémentaires.
Note : Comme, il n'existe pas de Standard International de référence permettant une harmonisation des valeurs de D-Dimères, généralement ces valeurs sont exprimées en ng/ml. Certains fabricants les expriment en UEF (Unités Equivalent Fibrinogène). L'équivalence entre ces deux unités est approximativement 2 UEF = 1 ng/ml.[22]

Limites de la méthode et substances interférant avec celle-ci

Les résultats des D-Dimères sur l'ACL TOP ne sont pas affectés par l'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dl (5 g/l), par la bilirubine jusqu'à 18 mg/dl (180 mg/l), par les triglycérides jusqu'à 1327 mg/dl (13,27 g/l) et par le facteur rhumatoïde jusqu'à 1400 UI/ml.
L'anticorps monoclonal (MA-8D3) utilisé dans le Réactif latex D-Dimère HS possède une haute spécificité pour le domaine D-Dimère contenu dans les produits de dégradation de la fibrine insoluble. Une faible réaction croisée avec les produits de dégradation du fibrinogène a été observée avec des plasmas chargés en fragments D et E purifiés, jusqu'à 10 µg/ml.
Les patients ayant reçu à des fins diagnostiques ou thérapeutiques des préparations d'anticorps de souris peuvent développer des anticorps anti-immunoglobulines de souris (HAMA). Ces HAMA présents dans le sérum ou le plasma des patients peuvent interférer avec les techniques immunologiques utilisant des anticorps monoclonaux de souris. Le tampon de réaction du réactif HemosIL D-Dimer HS contient un inhibiteur des HAMA permettant de limiter leur interférence sur les résultats du test.

Valeurs attendues

Les valeurs normales de cette étude ont été obtenues en utilisant 234 échantillons de patients provenant d'établissements de transfusion sanguine.

Analyseur	N	Valeurs normales supérieures (unités)
ACL TOP	234	243 (ng/ml)

Du fait qu'un grand nombre de variables peuvent affecter les résultats (en particulier l'âge des patients),[23-24] nous recommandons à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales.
Les résultats du dosage peuvent être utilisés avec d'autres informations, comprenant le contexte clinique, pour établir le diagnostic.

Caractéristiques et performances

Précision:

La précision intra-séries et totale (inter-séries et de jour à jour) a été évaluée au cours d'essais multiples.

ACL TOP	Moyenne (ng/ml)	CV% (Intra-séries)	CV% (Total)
Pool de plasmas D-Dimères	180	8,3%	11,0%
Contrôle D-Dimère Bas	314	3,7%	7,0%
Contrôle D-Dimère Haut	677	2,0%	7,0%

Corrélation:[21]

Analyseur	Pente	Ordonnée à l'origine	r	Méthode de référence
ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL D-Dimer sur ACL TOP

Dans une étude clinique complémentaire comparant les résultats obtenus avec le réactif I.L. D-Dimères HS à ceux obtenus avec la trousse HemosIL D-Dimères, 166 échantillons de patients (17 normaux, 32 avec une CIVD, 11 avec TVP, 17 avec EP et 89 avec différentes maladies) ont été évalués. La corrélation (r) était 0,961 sur l'ACL TOP (n=166). Des taux élevés de D-Dimères ont été retrouvés pour tous les échantillons de patients chez qui avait été fait le diagnostic clinique de CIVD, EP ou TVP.
Une étude clinique a été réalisée sur 300 échantillons congelés de plasmas de patients admis consécutivement dans un service d'urgence et suspectés d'EP ou TVP (fréquence de la Maladie Thromboembolique Veineuse: 26%). Parmi ces 300 patients, 78 ont été confirmés comme MTV positifs (47 EP et 31 TVP) par des tests standards objectifs, les 222 restants ont été confirmés comme négatifs.
Les résultats résumés ci-dessous s'entendent avec un cut-off de 230 ng/ml:

Instrument: Analyseur	N	Sensibilité (95% C.I.)	Spécificité (95% C.I.)	Valeur Prédictive Négative (95% C.I.)
ACL TOP	300	100% (95,4% - 100%)	46,8% (40,1% - 53,6%)	100% (96,5% - 100%)

Evaluation des performances cliniques, dans le cadre de l'exclusion de la maladie thromboembolique veineuse (MTV), du réactif HemosIL D-Dimer HS utilisé en conjonction avec un modèle de probabilité de pré-test clinique (PTP), chez des patients suspectés de développer une thrombose veineuse profonde (TVP) et/ou une embolie pulmonaire (EP)□:
Une étude clinique multicentrique réalisée dans 4 hôpitaux a porté sur 668 échantillons provenant de patients admis consécutivement dans le service d'urgence et suspectés de TVP ou d'EP. 307 d'entre eux étaient suspectés de TVP et 361 d'EP. Dans une première étape, chaque patient a fait l'objet d'une évaluation de la probabilité du pré-test clinique selon le modèle de Wells et ont été classés comme ayant une probabilité forte, modérée ou faible de développer une TVP ou une EP. Les patients ayant un test D-Dimères négatif et un score avec une faible probabilité n'ont pas fait l'objet d'examens complémentaires et ont été suivis pendant 3 mois afin de vérifier l'éventuelle survenue d'une TVP ou d'une EP. Pour les patients ayant un test D-Dimères négatif et un score avec une probabilité modérée, il était de la décision du médecin de pratiquer une imagerie médicale ou d'intégrer un suivi à 3 mois. Enfin, pour les patients ayant un test D-Dimères positif ou un score avec une forte probabilité, il était pratiqué une imagerie médicale.
La prévalence de la TVP sur l'effectif global étudié était de 20,2% (62/307).
La prévalence de l'EP sur l'effectif global étudié était de 16,1% (58/361). Durant le suivi à 3 mois, aucun des patients ayant eu un résultat négatif pour le test D-Dimères n'a développé une TVP ou une EP.
Les sensibilité, spécificité et valeur prédictive négative (VPN) pour le réactif HemosIL D-Dimer HS, et ce pour TVP et EP, utilisant un seuil décisionnel ou cut-off de 230 ng/ml déterminé lors d'études cliniques antérieures, sont indiquées ci-dessous avec l'intervalle de confiance 95% correspondant:

TVP	Tous échantillons	Probabilité Elevée	Probabilité Faible + Modérée
n	307	54	253
Sensibilité	100,0% (62/62) (94,2%-100,0%)	100,0% (28/28) (87,7%-100,0%)	100,0% (34/34) (89,7%-100,0%)
Spécificité	38,4% (94/245) (32,2%-44,8%)	34,6% (9/26) (17,2%-55,7%)	38,8% (85/219) (32,3%-45,6%)
Valeur Prédictive Négative	100,0% (94/94) (96,2%-100,0%)	100,0% (9/9) (66,4%-100,0%)	100,0% (85/85) (95,8%-100,0)

EP	Tous échantillons	Probabilité Elevée	Probabilité Faible + Modérée
n	361	28	333
Sensibilité	100,0% (58/58) (93,8%-100,0%)	100,0% (10/10) (69,2%-100,0%)	100,0% (48/48) (92,6%-100,0%)
Spécificité	35,6% (108/303) (30,2%-41,3%)	16,7% (3/18) (3,6%-41,4%)	36,8% (105/285) (31,2%-42,7%)
Valeur Prédictive Négative	100,0% (108/108) (96,6%-100,0%)	100,0% (3/3) (29,2%-100,0%)	100,0% (105/105) (96,5%-100,0%)

La précision et la corrélation des résultats ont été obtenues en utilisant des lots spécifiques de réactifs et de contrôles.

Limite de détection:

Analyseur	
ACL TOP	21 ng/ml

Linéarité:

Analyseur	Sans réanalyse automatique	Avec réanalyse automatique
ACL TOP	150 - 3680 ng/ml	150 - 69000 ng/ml

Lorsque la réanalyse automatique est activée, l'analyseur effectue automatiquement une dilution et corrige le résultat obtenu par le facteur de dilution étendant la linéarité jusqu'à 69000 ng/ml. Si le résultat se trouve encore hors de la limite de linéarité, i.e. supérieur 69000 ng/ml, les spécimens doivent être dilués manuellement au 1:100 en diluant facteur (20 µl d'échantillon + 1980 µl de diluant facteur) et redosés en utilisant la programmation habituelle. Les résultats obtenus devront être multipliés par 100 afin de tenir compte de la dilution.
Aucun effet de zone n'a été mis en évidence (i.e. excès d'antigène) jusqu'à 197000 ng/ml.

Instrumentation Laboratory
Instrumentation Laboratory Company - Bedford, MA 01730-2443 (USA)
Instrumentation Laboratory SpA - V.le Monza 338 - 20128 Milano (Italy) EC REP

HemosIL™

D-Dimer HS - 0020007700

ITALIANO - Revisione dell'inserto 04/2010

CE

Utilizzo

Il kit HemosIL D-Dimer HS è un test immunologico automatico con un lattice ottimizzato per la determinazione quantitativa del D-Dimero nel plasma umano citratato su coagulometro ACL TOP™ per l'utilizzo, insieme con il modello di predizione di probabilità clinica (pretest probability PTP), nella esclusione della diagnosi di tromboembolismo venoso (TEV) in pazienti con sospetta trombosi venosa profonda (TVP) ed embolia polmonare (EP).

Principio del metodo

Il D-Dimero è contenuto nei derivati solubili (XDP) formati dalla degradazione della fibrina stabilizzata dal Fattore XIIIa, da parte della plasmina.[1] La plasmina, una serin-proteasi, quando non è in presenza di inbitori, digerisce la fibrina insolubile che presenta legami crociati, producendo una varietà di derivati solubili. Il loro peso molecolare dipende dall'estensione del processo digestivo. Questi prodotti solubili di degradazione della fibrina contengono un neoantigene (dominio D-Dimero) che non è presente nella molecola originale di fibrinogeno, nei suoi prodotti di degradazione o nella fibrina solubile.[2,3] La determinazione del D-Dimero sta diventando uno strumento molto diffuso per la diagnosi della trombosi ed il monitoraggio della terapia trombolitica.[4]

Livelli elevati di D-Dimero sono presenti in condizioni cliniche come la trombosi venosa profonda (TVP), l'embolia polmonare (EP) e nella coagulazione intravascolare disseminata (CID).[5]

I livelli di D-Dimero aumentano anche durante la gravidanza, ma livelli molto elevati sono associati a complicanze.[6]

Un valore di D-Dimero negativo, associato ad una scarsa probabilità clinica di rischio trombotico, ha dimostrato possedere un elevato valore predittivo negativo di TVP ed EP.[7-13]

Il Reagente al lattice contenuto nel kit D-Dimero HS è una sospensione di particelle di polistirene di grandezza uniforme legate al frammento $F(ab')_2$ di anticorpi monoclonali altamente specifici per il dominio del D-Dimero contenuto nei derivati solubili della fibrina. L'uso del frammento $F(ab')_2$ consente di determinare il D-Dimero in modo più specifico eliminando l'interferenza di alcuni fattori endogeni come il fattore reumatoide. Quando un plasma contenente D-Dimero viene miscelato al Reagente al lattice ed al Tampone di reazione contenuto nel kit D-Dimero HS, le particelle di lattice agglutinano. Il grado di agglutinazione è direttamente proporzionale alla concentrazione del D-Dimero nel campione ed è determinato misurando la diminuzione della luce trasmessa, causata dagli aggregati (test immunologico turbidimetrico).[14]

Composizione

Il kit **D-Dimer HS** è composto da:

- R **Latex Reagent** (Nr. Cat. 0020007720): 3 flaconi da 2 mL di sospensione liofilizzata di anticorpi monoclonali (MA-8D3) (frammento $F(ab')_2$) diretti contro il D-Dimero legati a particelle di lattice di polistirene, con aggiunta di albumina bovina serica, tampone, stabilizzanti e conservante.
- B **Reaction Buffer** (Nr. Cat. 0020007721): 3 flaconi da 8 mL di tampone fosfato, con aggiunta di albumina bovina serica, stabilizzanti e conservante.
- C **D-Dimer Calibrator** (Nr. Cat. 0020007722): 2 flaconi da 1 mL di soluzione liofilizzata di D-Dimero parzialmente purificato da fibrina umana digerita con plasmina umana, con aggiunta di albumina bovina serica, tampone, stabilizzanti e conservante.

ATTENZIONE:

Questo prodotto contiene materiale di cui è stata verificata all'origine, con metodi raccomandati dalla FDA, l'assenza dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e degli anticorpi anti-HCV e anti-HIV 1/2. Trattare come potenzialmente infetto.[15]

Il Tampone di reazione contiene meno dello 0,1% di sodio azide che potrebbe formare azidi esplosive a contatto con tubature metalliche. Prendere le dovute precauzioni per lo smaltimento.

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle (S 24/25). Non gettare i residui nelle fognature (S 29). Usare indumenti protettivi adatti (S 36).

Per uso diagnostico *in vitro*.

Preparazione

Latex Reagent: Sciogliere il contenuto di ciascun flacone con 2 mL di acqua di Tipo CLRW secondo il documento CLSI (ex NCCLS) o equivalente.[16] Chiudere con il tappo e miscelare delicatamente. Assicurarsi della completa ricostituzione del prodotto. Mantenere il reagente a 15-25°C per 30 minuti e miscelarlo con cura prima dell'uso. Non agitare.

Reaction Buffer: Capovolgere delicatamente prima dell'uso. Il reagente è pronto all'uso. Non agitare.

D-Dimer Calibrator: Sciogliere il contenuto di ciascun flacone con 1 mL di acqua di Tipo CLRW secondo il documento CLSI (ex NCCLS) o equivalente.[16] Chiudere con il tappo e miscelare delicatamente. Assicurarsi della completa ricostituzione del prodotto. Mantenere il reagente a 15-25°C per 30 minuti e miscelarlo con cura prima dell'uso. Non agitare.

Nota: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione del prodotto. La presenza di bolle può interferire nel corretto funzionamento dei sensori dei liquidi sugli strumenti.

Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti e il calibrante sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.

Latex Reagent - Stabilità dopo la ricostituzione: 1 mese a 2-8°C nel flacone originale o 4 giorni a 15°C su ACL TOP™. Non congelare.

Reaction Buffer - Il reagente aperto è stabile per 1 mese a 2-8°C nel flacone originale o 4 giorni a 15°C su ACL TOP.

D-Dimer Calibrator - Stabilità dopo la ricostituzione: 3 giorni a 15-25°C, 1 mese a 2-8°C o 2 mesi a -20°C nel flacone originale. Il calibrante congelato può essere scongelato a 37°C e miscelato delicatamente prima dell'uso. Non ricongelare.

Al termine dei cicli lavorativi si consiglia di conservare i reagenti a 2-8°C nel flacone originale per una migliore stabilità.

Metodo

Per le metodiche e le procedure di lavoro consultare il Manuale dell'Operatore e/o il Manuale Applicativo.

Preparazione dei campioni

Aggiungere a nove parti di sangue fresco venoso una parte di trisodio citrato. Per informazioni aggiuntive sulla preparazione, il trattamento e la conservazione dei campioni fare riferimento al documento CLSI H21-A4.[17]

Scongelare rapidamente i campioni a 37°C e centrifugare il plasma prima di eseguire il test. Analizzare i campioni entro 2 ore dallo scongelamento.

Reagenti ausiliari e plasmi di controllo

I seguenti reattivi non sono forniti insieme al kit e devono essere ordinati separatamente.

Controlli D-Dimero	Nr. Cat. 0020008610
Diluente fattori	Nr. Cat. 0009757600

Controllo di qualità

Per un completo programma di controllo di qualità si raccomanda l'uso di due livelli di controllo.[18] I controlli D-Dimero Livello Basso e D-Dimero Livello Alto sono indicati per questo programma. Ogni laboratorio deve definire i valori medi e le deviazioni standard per i controlli utilizzati nel proprio programma di controllo di qualità. I controlli dovrebbero essere analizzati almeno una volta ogni 8 ore. Riferirsi al Manuale dell'Operatore per ulteriori informazioni. Per i casi particolari consultare all'articolo di Westgard *et al.*[19]

Calibratori e materiali di controllo

I valori indicati sono stati assegnati eseguendo repliche successive sui sistemi di coagulazione IL con l'impiego di un lotto specifico di reagente rispetto a uno Standard Interno (Aziendale) di Plasma calibrante. Poiché non è attualmente disponibile uno Standard Internazionale per il D-Dimero, il valore dello Standard Interno è stato assegnato secondo le indicazioni proposte da W. Niewenhuizen.[20,21]

Risultati

I risultati del test D-Dimero sono riportati in ng/mL. Riferirsi al Manuale dell'Operatore per ulteriori informazioni.

NOTA: Poiché non è attualmente disponibile uno Standard Internazionale di Riferimento, alcuni produttori esprimono i risultati del D-Dimero in UFE (Unità di Fibrinogeno Equivalenti). La corrispondenza tra le due unità di misura è data dalla seguente espressione 2 UFE = 1 ng/ml.[22]

Limitazioni/sostanze interferenti

I risultati del test D-Dimero su ACL TOP non sono influenzati in presenza di livelli di emoglobina fino a 500 mg/dL, bilirubina fino a 18 mg/dL, trigliceridi fino a 1327 mg/dL e fattore reumatoide fino a 1400 UI/mL.

L'anticorpo monoclonale (MA-8D3) usato nel Reagente al lattice D-Dimero HS è particolarmente specifico per il dominio del D-Dimero presente nei prodotti di degradazione del fibrinogeno (FDP) a legami crociati. Una modesta interferenza ai prodotti di degradazione del fibrinogeno è stata osservata con campioni di plasma addizionati di frammenti purificati D ed E a concentrazione superiore a 10 μg/mL.

I campioni di quei pazienti ai quali sono stati somministrati farmaci a base di anticorpi monoclonali di topo, a scopo diagnostico o terapeutico, possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). La presenza di HAMA nei campioni può causare una sovrastima dei livelli del D-Dimero. Il Reaction Buffer contenuto nel kit HemosIL D-Dimer HS contiene un agente diretto contro gli HAMA per limitarne le interferenze sui risultati dei campioni.

Valori attesi

Il seguente intervallo di normalità è stato determinato analizzando campioni di 234 soggetti adulti sani, donatori.

Sistema	Nr	Valore soglia (unità)
ACL TOP	234	243 (ng/mL)

Poichè numerose variabili (ad es. l'età della popolazione),[23-24] possono influenzare i valori attesi, ogni laboratorio dovrebbe stabilire il proprio intervallo di normalità.

I risultati del test D-Dimero dovrebbero essere utilizzati insieme ad altre informazioni, compreso il quadro clinico, per una diagnosi completa.

Prestazioni

Precisione:

La precisione, nella serie e totale (tra ciclo e ciclo e tra giorno e giorno), è stata verificata eseguendo numerosi test.

ACL TOP	Media (ng/mL)	CV% (nella serie)	CV% (Totale)
Pool di plasmi	180	8,3%	11,0%
Controllo D-Dimero Livello Basso	314	3,7%	7,0%
Controllo D-Dimero Livello Alto	677	2,0%	7,0%

Correlazione:[21]

Sistema	Pendenza	Intercetta	r	Metodo di riferimento
ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL D-Dimer su ACL TOP

In uno studio clinico di comparazione tra il kit D-Dimero e il kit HemosIL D-Dimer già presente in commercio, sono stati valutati 166 campioni di pazienti (17 normali, 32 con CID, 11 con TVP, 17 con EP e 89 con altre patologie). La correlazione (r) ottenuta è stata di 0,961 su ACLTOP (n=166). Livelli elevati di D-Dimero sono stati osservati in tutti i campioni di pazienti con CID, EP e TVP.

E' stato inoltre eseguito uno studio su 300 campioni congelati da pazienti ricoverarti in pronto soccorso con sospetto di EP o TVP (frequenza del tromboembolismo venoso: 26 %). Dei 300 campioni, 78 sono stati confermati come positivi al TVE (47 di EP e 31 di TVP) utilizzando i tradizionali test di diagnosi e i restanti 222 sono stati confermati come negativi.

I risultati sono qui di seguito riportati utilizzando un cutt-off di 230 ng/mL.

Strumento: Sistema	N	Sensibilità (95% C.I.)	Specificità (95% C.I.)	Valore predittivo negativo (95% C.I.)
ACL TOP	300	100%	46.8%	100%
		(95,4% - 100%)	(40.1% - 53,6%)	(96,5% - 100%)

Dati clinici ottenuti utilizzando il kit HemosIL D-Dimer HS insieme al modello di predizione di probabilità clinica (PTP) su pazienti con sospetto di trombosi venosa profonda (TVP) ed embolia polmonare (EP), allo scopo di escludere un evento tromboembolico.

Un studio multicentrico è stato eseguito in quattro ospedali su 668 campioni di pazienti pervenuti in pronto soccorso con sospetto di TVP o EP. 307 pazienti furono sospettati di TVP e 381 di EP. In una parte dello studio, i pazienti sono stati valutati secondo il modello di Wells di predizione di probabilità clinica (PTP) e sono stati classificati ad alta, moderata e bassa probabilità di TVP o EP. I pazienti con un D-Dimero negativo ed un basso valore di predizione di probabilità clinica (PTP) non sono stati sottoposti ad ulteriori accertamenti e sono stati seguiti per 3 mesi, nel caso si manifestasse un TVP o una EP. I pazienti con un D-Dimero negativo ed un moderato valore di predizione di probabilità clinica (PTP), è stato lasciato a discrezione del medico se seguirli per 3 mesi o sottoporli ad ulteriori accertamenti. I pazienti con un D-Dimero positivo o un alto valore di predizione di probabilità clinica (PTP) sono stati sottoposti ad ulteriori accertamenti diagnostici.

La presenza di TVP nella popolazione analizzata è stata del 20,2 % (62/307).
La presenza di EP nella popolazione analizzata è stata del 16,1 % (58/361). Nessuno dei pazienti con D-Dimero negativo, ha sviluppato una TVP o una EP nei tre mesi successivi l'analisi.

La sensibilità, la specificità e il valore predittivo negativo (VPN) dell'HemosIL D-Dimer HS per la TVP e EP, usando il cut-off precedentemente stabilito di 230 ng/mL, sono risultate al di sotto dell'intervallo di confidenza (CI) con il corrispondente 95 %.

Prestazione TVP	Tutti i campioni	PTP alto	PTP Basso + moderato
n	307	54	253
Sensibilità	100,0% (62/62) (94,2%-100,0%)	100,0% (28/28) (87,7%-100,0%)	100,0% (34/34) (89,7%-100,0%)
Specificità	38,4% (94/245) (32,2%-44,8%)	34,6% (9/26) (17,2%-55,7%)	38,8% (85/219) (32,3%-45,6%)
Valore Predittivo Negativo	100,0% (94/94) (96,2%-100,0%)	100,0% (9/9) (66,4%-100,0%)	100,0% (85/85) (95,8%-100,0)

Prestazione EP	Tutti i campioni	PTP alto	PTP Basso + moderato
n	361	28	333
Sensibilità	100,0% (58/58) (93,8%-100,0%)	100,0% (10/10) (69,2%-100,0%)	100,0% (48/48) (92,6%-100,0%)
Specificità	35,6% (108/303) (30,2%-41,3%)	16,7% (3/18) (3,6%-41,4%)	36,8% (105/285) (31,2%-42,7%)
Valore Predittivo Negativo	100,0% (108/108) (96,6%-100,0%)	100,0% (3/3) (29,2%-100,0%)	100,0% (105/105) (96,5%-100,0%)

I risultati dei test di precisione e di correlazione sono stati ottenuti usando uno specifico lotto di reagenti e controlli.

Limite di rilevabilità:

Sistema	
ACL TOP	21 ng/mL

Linearità:

Sistema	Auto Rerun: NO	Auto Rerun: SI
ACL TOP	150 - 3680 ng/mL	150 - 69000 ng/mL

Quando la diluizione e la ripetizione automatica dei campioni sono attivate, lo strumento esegue direttamente la diluizione dei campioni e moltiplica il risultato finale per il fattore di diluizione, estendendo la linearità del test fino a 69000 ng/mL. Se tuttavia il risultato è superiore all'intervallo di linearità esteso, ad esempio per valori superiori a 69000 ng/mL, i campioni devono essere diluiti manualmente 1:100 con il Diluente fattori (es. 20 μL di campione + 1980 μL di Diluente fattori) e rianalizzati con la metodica di base. I risultati devono essere poi moltiplicati per il relativo fattore di diluizione.

Il test non presenta l'effetto "prozona" (cioè dovuto ad un eccesso di antigene) fino a 197000 ng/mL.

D-Dimer HS - 0020007700

PORTUGUÊS - Revisão do folheto 04/2010

CE

Aplicação Prevista

O HemosIL D-Dimer HS é um imunoensaio melhorado com latex e automatizado para a determinação quantitativa do D-Dímero no plasma humano citratado no ACL TOPTM para utilização, em associação com um modelo de avaliação da probabilidade clínica pré-teste (PTP) para exclusão de tromboembolismo venoso (TEV) em doentes em ambulatório com suspeita de trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP)

Resumo e Princípio

A degradação da fibrina estabilizada pelo Factor XIIIa, por plasmina, cria uma série de derivados solúveis que contêm D-Dímero (XDP).[1] Quando a plasmina, uma protease sérica, não está em presença de inibidores, digere a fibrina entrelaçada criando uma grande variedade de derivados solúveis cujos pesos moleculares dependem da extensão da digestão. Estes produtos solúveis da degradação contêm um neo-antigénio (domínio D-Dímero) que não está presente na molécula original de fibrinogénio, nos seus produtos de degradação, nem na fibrina solúvel.[2,3] A determinação de D-Dímero é cada vez mais utilizada para o diagnóstico de trombose e para a monitorização de terapêuticas trombolíticas.[4] Algumas são a trombose venosa profunda (TVP), o embolismo pulmonar (EP) e a coagulação intravascular disseminada (CID).[5] Durante uma gravidez normal os níveis de D-Dímero aumentam, mas muito menos do que numa gravidez associada a complicações.[6]

Um resultado de D-Dímero negativo, associado a uma avaliação clínica de baixa probabilidade pré-teste, demonstrou ter um valor preditivo negativo elevado para TVP ou EP.[7-13]

O Reagente Látex D-Dímero HS é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno de tamanho uniforme, às quais se juntou o fragmento $F(ab')_2$ de um anticorpo monoclonal altamente específico contra o domínio D-Dímero contido nos derivados solúveis da fibrina. A utilização do fragmento $F(ab')_2$ permite uma detecção mais específica do D-Dímero evitando a interferência de alguns factores endógenos, tal como o Factor Reumatoíde. Quando se mistura um plasma, que contenha D-Dímero, com o Reagente Látex e o Tampão de Reacção, as partículas aglutinam. O grau de aglutinação é directamente proporcional à concentração de D-Dímero presente no plasma. Os agregados provocam uma descida da luz transmitida (imunoensaio turbidimétrico).[14]

Composição

O kit **D-Dimer HS (D-Dímero HS)** é composto por:

- R **Latex Reagent** (Núm. Cat.0020007720): recipientes 3 x 2 mL de uma suspensão de partículas de látex de poliestereno, às quais se juntou o fragmento $F(ab')_2$ de um anticorpo monoclonal (MA-8D3) específico contra o D-Dímero. Apresenta-se liofilizado. Contém albumina de soro bovino, tampão, estabilizadores e conservante.
- B **Reaction Buffer** (Núm. Cat.0020007721): recipientes 3 x 8 mL de um tampão fosfato que contém albumina de soro bovino, estabilizadores e conservante.
- C **D-Dimer Calibrator** (Núm. Cat.0020007722): recipientes 2 x 1 mL de uma dissolução de D-Dímero parcialmente purificado a partir de fibrina humana digerida com plasmina. Apresenta-se liofilizado. Contém albumina de soro bovino, conservante e estabilizadores.

AVISOS E PRECAUÇÕES:

O material utilizado neste produto foi analisado com testes aprovados pela FDA e verificou-se a ausência de reacção ao Antigénio de Superfície da Hepatite B (HBsAg), aos anticorpos anti-HCV e anti-HIV 1/2. No entanto, deve-se manipular com precaução, como potencialmente infeccioso.[15]

O Tampão de Reacção contém azida sódica (0,1%), que pode provocar reacções com os tubos metálicos, dando lugar a azidas altamente explosivas. Tomar as devidas precauções quando se proceder à sua eliminação.

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

Latex Reagent: Dissolver o conteúdo do recipiente com 2 mL de água tipo CLRW segundo o CLSI (anteriormente NCCLS) ou equivalente.[16] Tapar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15-25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo suavemente o recipiente antes de utilizar. Não agitar.

Reaction Buffer: Misturar invertendo suavemente o recipiente. O reagente está pronto a ser utilizado. Não agitar.

D-Dimer Calibrator: Dissolver o conteúdo do recipiente com 1 mL de água tipo CLRW segundo o CLSI (anteriormente NCCLS) ou equivalente.[16] Tapar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15-25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo suavemente o recipiente antes de utilizar. Não agitar.

Nota: Evitar a formação de espuma quando proceder à homogeneização dos reagentes e do calibrador reconstituídos. Bolhas no cimo do líquido, podem interferir com os sensores de líquido do aparelho.

Conservação e estabilidade dos reagentes

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C.

Latex Reagent - Estabilidade após reconstituição: 1 mês a 2-8°C no recipiente original ou 4 dias a 15°C no ACL TOP. Não congelar

Reaction Buffer - O reagente aberto é estável durante 1 mês a 2-8°C no recipiente original ou 4 dias a 15°C no ACL TOP.

D-Dimer Calibrator - Estabilidade após reconstituição: 3 dias a 15-25°C, 1 mês a 2-8°C ou 2 meses a -20°C no recipiente original. O calibrador pode ser descongelado a 37°C. Homogeneizar suavemente antes de utilizar. Não voltar a congelar.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-o entre 2-8°C, nos recipientes originais.

Método de ensaio

Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador e/ou com o Manual de Aplicações dos Instrumentos IL.

Recolha e preparação da amostra

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no documento H21-A4 da CLSI.[17]

Caso as amostras tenham sido congeladas, deverão ser descongeladas rapidamente a 37°C e deverão ser centrifugadas antes de serem analisadas. O ensaio deverá ser efectuado antes de terem passado 2 horas da sua descongelação e centrifugação.

Reagentes adicionais e plasmas de controlo

Este kit não inclui os produtos abaixo mencionados, pelo que deverão ser pedidos em separado:

Controlos de D-Dímero	Núm. Cat. 0020008610
Diluente de factores	Núm. Cat. 0009757600

Controlo de Qualidade

Para realizar um programa completo de Controlo de Qualidade, recomenda-se a utilização de dois níveis de controlo.[18] Os controlos adequados para este programa são D-Dímero Controlos Baixo e Alto. Cada laboratório debe estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.[19]

Rastreabilidade dos calibradores e materiais de controlo

Os valores referidos foram determinados através de diversas análises efectuadas nos Sistemas de Coagulação da IL, utilizando um lote específico de reagente e comparando com um Padrão interno da IL. Como o Padrão Internacional D-Dímero (D-Dimer International Standard), não se encontra actualmente disponível, este padrão do Laboratório foi atríbuido de acordo com o critério de harmonização proposto por W. Niewenhuizen.[20,21]

Resultados

Os resultados de D-Dímero são expressos em ng/mL. Para mais informações consultar o Manual do Utilizador.

Nota: Devido à inexistência de um Padrão Internacional de Referência, alguns fabricantes expressam os resultados do D-Dímero em FEU (Fibrinogen Equivalent Unit). A equivalência entre estas 2 unidades de medição é de aproximadamente 2 FEU = 1 ng/mL.[22]

Limitações/interferências

Concentrações de hemoglobina até 500 mg/dL, de bilirrubina até 18 mg/dL, de triglicéridos até 1327 mg/dL e de factor reumatóide até 1400 UI/mL não afectam os resultados de D-Dímero no ACL TOP.

O anticorpo monoclonal (MA-8D3) utilizado no Reagente Látex D-Dímer HS, tem especificidade principalmente pelo domínio D-Dímero dos produtos de degradação da fibrina entrelaçada. Observou-se uma ligeira reacção-cruzada com produtos de degradação do fibrinogénio em amostras de plasma, às quais se juntou mais de 10 μg/mL dos fragmentos purificados D e E.

As amostras de doentes a quem foram administradas preparações com anticorpos monoclonais de origem murina, para diagnóstico ou terapêutica, podem conter anticorpos humanos antimurino (human anti-mouse antibody-HAMA). A presença de HAMA pode causar uma sobre-estimação dos resultados em imunoensaios que utilizam anticorpos monoclonais murinos. O HemosIL D-Dimer HS Reaction Buffer contém um agente bloqueante contra HAMA para minimizar esta interferência nos resultados do ensaio.

Valores Esperados

Efectuou-se um estudo do limite de normalidade utilizando 234 amostras individuais de dadores do banco de sangue.

Sistema	N	Limite Superior do Intervalo (unidades)
ACL TOP	234	243 (ng/mL)

Devido a várias variáveis que podem afectar os resultados (incluíndo a idade da população),[23-24] cada laboratório deve estabelecer os seus intervalos de valores normais.

Para estabelecer um diagnóstico, os resultados da análise devem ser utilizados em conjunto com a restante informação, incluindo a história clínica.

Características técnicas

Precisão:

A precisão foi avaliada, intra e na totalidade (de análise para análise e de dia para dia), ao longo de vários ensaios.

ACL TOP	Média (ng/mL)	CV% (Intra-ensaio)	CV% (Total)
Pool de plasmas D-Dímero	180	8,3%	11,0%
Controlo D-Dímero Baixo	314	3,7%	7,0%
Controlo D-Dímero Alto	677	2,0%	7,0%

Correlação:[21]

Sistema	declive	intersecção	r	Método de referência
ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL D-Dimer em ACL TOP

Num estudo clínico adicional, comparou-se este kit D-Dímer com o kit HemosIL D-Dímer, já disponível no mercado. Foram analisadas amostras de 166 doentes (17 normais, 32 com CID, 11 com TVP, 17 com EP e 89 com diversos estados patológicos). Obteve-se uma correlação (r) de 0,961 no ACL TOP (n=166). Foram encontrados níveis elevados de D-Dímero em doentes com um diagnóstico clínico de TVP, de PE e de CID.

Foi realizado um estudo de resultados com 300 amostras congeladas de doentes consecutivamente admitidos numa unidade de urgência, com suspeita de EP ou TVP (frequência de doença de tromboembolismo venoso: 26%). Das 300 amostras, 78 foram confirmadas como TEV positivas (47 EP e 31 TVP) por testes padrão objectivos e as restantes 222 foram confirmadas como negativas.

Os resultados a seguir resumidos, baseiam-se num cut-off de 230 ng/mL:

Aparelho: Sistema	N	Sensibilidade (95% C.I.)	Especificidade (95% C.I.)	Valor Preditivo Negativo (95% C.I.)
ACL TOP	300	100%	46,8%	100%
		(95,4% - 100%)	(40,1% - 53,6%)	(96,5% - 100%)

O desempenho clínico na avaliação de doentes em ambulatório com suspeita de trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP) com o HemosIL D-Dimer HS em associação com o valor da probabilidade clínica pré-teste do doente (PTP) para exclusão de tromboembolismo venoso (VTE).

A prevalência geral de TVP na população total de amostras foi de 20.2%(62/307). A prevalência geral de TEP na população total de amostras foi de 16.1%. Quanto ao seguimento de 3 meses, nenhum dos doentes que tiveram resultados negativos com o teste do D-Dímero desenvolveram TVP ou TEP.

Foi realizado um estudo multicêntrico de gestão em em 4 hospitais com 668 amostras de doentes admitidos consecutivamente na urgência com suspeita de TVP ou TEP. 307 doentes tinham suspeita de TVP e 381 doentes tinham suspeita de EP. Como parte do estudo, os doentes efectuaram uma avaliação PTP (probabilidade pré-teste) com o modelo Wells e foram classificados como tendo uma probabilidade elevada, moderada ou baixa de TVP ou EP. Os doentes com um resultado negativo no teste D-Dímero e um valor baixo de PTP não realizaram mais testes de diagnóstico e foram monitorizados após 3 meses, para desenvolvimento de TVP ou EP. Para um doente com um resultado negativo de D-Dímero e um PTP moderado, o médico decidia se devia efectuar a monitorização aos 3 meses ou se o doente devia realizar testes imagiológicos. Os doentes com um teste de D-Dímero positivo ou um valor elevado de PTP realizaram testes imagiológicos.

A prevalência geral de TVP na população total de amostras foi de 20.2% (62/307). A prevalência geral de EP na população total de amostras foi de 16.1% (58/361). Do grupo de doentes monitorizado aos 3 meses, nenhum dos que tiveram um teste D-Dímero negativo, desenvolveram TVP e/ou TEP.

A sensibilidade, especificidade e valor preditivo negativo (NPV) do HemosIL D-Dimer HS para TVP ou EP com o cut-off clínico previamente estabelecido de 230 ng/mL está resumido a seguir, com os correspondentes intervalos de confiança a 95% (IC):

Desempenho TVP	Todas as amostras	PTP elevado	PTP Baixa + moderada
n	307	54	253
Sensibilidade	100,0% (62/62) (94,2%-100,0%)	100,0% (28/28) (87,7%-100,0%)	100,0% (34/34) (89,7%-100,0%)
Especificidade	38,4% (94/245) (32,2%-44,8%)	34,6% (9/26) (17,2%-55,7%)	38,8% (85/219) (32,3%-45,6%)
Valor preditivo negativo	100,0% (94/94) (96,2%-100,0%)	100,0% (9/9) (66,4%-100,0%)	100,0% (85/85) (95,8%-100,0)

Desempenho EP	Todas as amostras	PTP elevado	PTP Baixa + moderada
n	361	28	333
Sensibilidade	100,0% (58/58) (93,8%-100,0%)	100,0% (10/10) (69,2%-100,0%)	100,0% (48/48) (92,6%-100,0%)
Especificidade	35,6% (108/303) (30,2%-41,3%)	16,7% (3/18) (3,6%-41,4%)	36,8% (105/285) (31,2%-42,7%)
Valor preditivo negativo	100,0% (108/108) (96,6%-100,0%)	100,0% (3/3) (29,2%-100,0%)	100,0% (105/105) (96,5%-100,0%)

Estes resultados de precisão e de correlação foram obtidos utilizando lotes específicos, de reagente e de controlo.

Limite de detecção:

Sistema	
ACL TOP	21 ng/mL

Lineariedade:

Sistema	Auto Rerun desligado	Auto Rerun ligado
ACL TOP	150 - 3680 ng/mL	150 - 69000 ng/mL

Quando a capacidade de "rerun" do aparelho é activada, o aparelho executa uma diluição "on-board" e corrige o resultado final para o factor de diluição, alargando o intervalo do teste a 69000 ng/mL. Se o resultado ainda exceder o intervalo expandido, i.e. a 69000 ng/mL, então as amostras devem ser diluídas manualmente a 1:100 com Diluente de Factores (20 μL de amostra + 1980 μL de Diluente) e reanalisadas no ensaio padrão. Os resultados obtidos devem ser multiplicados por 100 a fim de corrigir a diluição.

Este ensaio não demonstra efeito de prózona (i.e. excesso de antigénio) até 197000 ng/L.

Instrumentation Laboratory

Instrumentation Laboratory Company - Bedford, MA 01730-2443 (USA)
Instrumentation Laboratory SpA - V.le Monza 338 - 20128 Milano (Italy) EC REP

Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia /Bibliografia

1. Gaffney PJ, et al. Monoclonal antibodies to crosslinked fibrin degradation products (XL-FDP) I. Characterization and preliminary evaluation in plasma, British Journal of Haematology. 1988; 68: 83-90.
2. Palareti G. Fibrinogen/fibrin Degradation Products: Pathophysiology and Clinical Application, Fibrinolysis. 1993; 7: 60-61.
3. Gaffney PJ. The Occurrence and Clinical Relevance of Fibrin Fragments in Blood, Annals New York Academy of Sciences. 1983; 408: 407-423.
4. Bounameaux H, et al. Plasma Measurement of D-Dimer as Diagnostic Aid in Suspected Venous Thromboembolism: An Overview, Thrombosis and Haemostasis. 1994; 71 (1): 1-6.
5. Gaffney PJ, et al. Monoclonal antibodies to crosslinked fibrin degradation products (XL-FDP) II, Evaluation in a variety of clinical conditions. British Journal of Haematology. 1988; 68: 91-96.
6. Nolan TE, et al. Maternal Plasma D-Dimer Levels in Normal and Complicated Pregnancies, Obstetrics & Gynecology. 1993; 81 (2): 235-238.
7. Anderson DR, and Wells PS. Improvements in the Diagnostic Approach for Patients with Suspected Deep Vein Thrombosis or Pulmonary Embolism, Thrombosis and Haemostasis. 1999; 82 (2): 878-886.
8. Kovacs MJ, MacKinnon KM, Anderson D, O'Rourke K, Keeney M, Kearon C, Ginsberg J, Wells PS. A comparison of three rapid D-dimer methods for the diagnosis of Venous Thromboembolism, British J. Haematolgy. 2001; 115 (1): 140-146.
9. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, Kovacs G, Mitchell M, Lewandowski B and Kovacs MJ. Evaluation of D-Dimer in the Diagnosis of Suspected Deep-Vein Thrombosis, N. Engl. J. Med. 2003; 349:1227-35.
10. Oswald CT, Menon V, Stouffer GA. The use of D-Dimer in emergency room patients with suspected deep vein thrombosis: a test whose time has come, Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2003; 1: 635-636.
11. Anderson DR, Kovacs MJ, Kovacs G, Stiell I, Mitchell M, Khoury V, Dryer J, Ward J and Wells PS. Combined use of clinical assessment and D-Dimer to improve the management of patients presenting to the emergency department with suspected deep vein thrombosis (the EDITED study), J Thromb Haemost, 2003; 1: 645-651.
12. Curtin N, Highe G, Harris M, Braunstein A, Demattia F, Coss L. Extensive evaluation of the instrumentation laboratory IL test D-Dimer immunoturbidimetric assay on the ACL 9000 determines the D-Dimer cutoff value for reliable exclusion of venous thromboembolism, Lab Hematol. 2004;10 (2): 88-94.
13. Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Coccheri S. Performance of a new, fast D-Dimer test (IL Test D-Dimer) for the management of outpatients with suspected deep vein thrombosis in emergency situations, Fibrinolysis & Proteolysis 1999. 13(3): 139-141.
14. Newman DJ, et al. Particle enhanced light scattering immunoassay, Ann Clin Biochem. 1992; 29: 22-42.
15. Richmond JY, McKinney RW eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, 4th Edition, 1999.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document C3-A4; Vol. 26 No. 22.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
18. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
19. Westgard JO, and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
20. Tumanova I, Serra J. New quantitative assay for D-Dimer. Method comparison study: standardization difficulties. Communication presented at the XIII International Congress on Fibrinolysis and Thrombolysis, Barcelona, June 24-28, 1996.
21. Nieuwenhuizen W. A Reference Material for Harmonisation of D-Dimer Assays, Thrombosis and Haemostasis. 1997; 77 (5): 1031-1033.
22. Bos R, Laterveer-Vreeswijk GH, Lockwood D, Szewczyk K, Nieuwenhuizen W. A new enzyme immunoassay for soluble fibrin in plasma, with a high discriminating power for thrombotic disorders, Thromb Haemost. 1999; 81(1): 54-59.
23. Villa P, Ferrando F, Serra J, Faus H, Mira Y, Vaya A, Aznar J. Quantification of D-dimer using a new fully automated assay: its application for the diagnosis of deep vein thrombosis, Haematologica, 2000; 85(5): 520-4.
24. Bounameaux, H. Should the D-Dimer Cut-off Value Be Increased in Elderly Patients Suspected of Pulmonary Embolism? Thrombosis and Haemostasis. 2001; 85: 744.

Issued April 2010

Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados

REFERENCE VALUE — Reference value / Referenzwerte / Valor de referencia / Valeur de référence / Valore di riferimento / Valor de referência

IVD — *In vitro* diagnostic medical device / *In-vitro* Diagnostikum / De uso diagnóstico *in vitro* / Dispositif mèdical de diagnostic *in vitro* / Per uso diagnostico *in vitro* / Dispositivo médico para utilização em diagnóstico *in vitro*

LOT — Batch code / Chargen-Bezeichnung / Identificación número de lote / Désignation du lot / Numero del lotto / Número de lote

(hourglass) — Use by / Verwendbar bis / Caducidad / Utilisable jusqu'à / Da utilizzare prima del / Data límite de utilização

(thermometer) — Temperature limitation / Festgelegte Temperatur / Temperatura de Almacenamiento / Températures limites de conservation / Limiti di temperatura / Límite de temperatura

(book) — Consult instructions for use / Beilage beachten / Consultar la metódica / Lire le mode d'emploi / Vedere istruzioni per l'uso / Consultar as instruções de utilização

CONTROL — Control / Kontrollen / Control / Contrôle / Controllo / Controlo

(biohazard) — Biological risks / Biologisches Risiko / Riesgo biológico / Risque biologique / Rischio biologico / Risco biológico

(factory) — Manufacturer / Hergestellt von / Fabricado por / Fabricant / Prodotto da / Fabricado por

EC REP — Authorised representative / Bevollmächtigter / Representante autorizado / Mandataire / Rappresentanza autorizzata / Representante autorizado

REFERENCE VALUE

	ACL TOP
C	ng/mL
LOT	
(hourglass)	

D-Dimer HS	***0020007700***
Printed Insert Sheet:	3800-3383
Revision:	R5
Issued:	April 2010
C.O.:	....

LANGUAGES	
ENGLISH	
DEUTSCH	
ESPAÑOL	
FRANÇAIS	
ITALIAN	
PORTUGUESE	

TECHNICAL SPEC'S	
PAPER:	White paper, 50-60 g/m^2 weight.
SIZE:	594 x 420 mm (DIN A2).
PRINT:	Front/Back.
PRINT COLOR:	Front - Top Band Green Pantone 382, all remaining type in black. Back - All type in black.